

# 亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤的保护作用

李远辉, 黄挺章, 郭圣奇, 覃茜柠, 黄莉莉, 零新岚, 黄彦峰\*, 赵善民  
(右江民族医学院, 广西百色 533000)

**【摘要】** 目的:探索亚麻子水提物和醇提物对 *D*-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤的保护作用。方法:采用 *D*-半乳糖胺建立小鼠急性肝损伤模型。将90只小鼠分为9组,分别为空白组、模型组、联苯双酯滴丸组、亚麻子水提物和醇提物的低、中、高各3个剂量组。空白组和模型组每天 *ig* 等体积的生理盐水,其他各组按相应药物剂量每天 *ig*1次,共10 d。第9天 *ig* 12 h后,按  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  *ip* 10% *D*-半乳糖胺溶液进行造模。末次给药24 h后取小鼠眼球血,测定血清丙氨酸转氨酶(ALT),天冬氨酸转氨酶(AST)活性,测定肝组织中丙二醛(MDA)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)活力、谷胱甘肽(GSH)的含量。取肝脏称重计肝指数,并切片,做HE染色,光镜观察肝脏病理组织学变化。**结果:**与正常组比较,模型组显著升高ALT,AST,MDA水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),降低SOD,GSH活性( $P < 0.01$ ),肝组织结构不清,肝细胞溶解坏死明显;与模型组比较,亚麻子水提物(高剂量组)和亚麻子醇提物(低剂量组)可增高血清中SOD活性( $P < 0.05$ ),降低MDA水平( $P < 0.01$ ),亚麻子治疗组均降低血清ALT,AST,降低肝指数,均有改善肝组织结构,减少肝细胞坏死数量,有肝细胞再生,高剂量组改善较明显。**结论:**亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤有一定的保护作用。

**【关键词】** 亚麻子; 提取物; *D*-半乳糖胺; 急性肝损伤

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2015)16-0139-04

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015160139

## Protective Effect of Lini Semen Extract on *D*-galactosamine Induced Acute Liver Injury in Mice

LI Yuan-hui, HUANG Ting-zhang, GUO Sheng-qi, QIN Xi-ning, HUANG Li-li, LING Xin-lan, HUANG Yan-feng\*, ZHAO Shan-min (Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

**【Abstract】** **Objective:** To explore the protective effect of Lini Semen water extract and alcohol extract on *D*-GalN induced acute liver injury in mice. **Method:** The mice acute liver injury model was induced by *D*-GalN. 90 mice were divided into 9 groups, blank group, model group, Bifendate pills group, Lini Semen water extract and alcohol extracts, low, middle, high dose group. The blank group and the model group were given volume saline, the other groups were given corresponding drugs dose by gavage once daily for 10 d. At the ninth day of administration, according to the dosage of  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  intraperitoneal injection of 10% *D*-GalN amine solution was given to establish the model. 24 h after the last administration blood samples were collected to measure serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activity. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD) in liver tissue and liver index were measured. The hepatic histological changes were observed by HE with light microscope. **Result:** Compared with the normal group, model group significantly increased ALT, AST, MDA levels ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), decreased SOD and GSH activity ( $P < 0.01$ ), hepatic tissue structure was not clear, dissolved necrosis of liver cells were obviously; observed. Compared with the model group, the Lini Semen water extraction high dose and alcohol extraction low dose groups could increase the activity of serum SOD ( $P < 0.05$ ), decrease the level of MDA ( $P < 0.01$ ). Lini Semen treatment group decrease serum ALT, AST and the liver index, and improved hepatic tissue structure, reduced the number of necrosis of liver cells, liver cell regeneration was observed. The high dose group improved obviously. **Conclusion:** Lini Semen extract has certain protective effect on acute liver injury induced by *D*-GalN in mice.

**【Key words】** Lini Semen; extract; *D*-galactosamine; acute liver injury

**【收稿日期】** 20141128(014)

**【基金项目】** 广西壮族自治区大学生创新创业训练计划立项项目(201410599007);右江民族医学院民族医药协会项目(20140815)

**【第一作者】** 李远辉, Tel:18777615728, E-mail: ylyuanhui@163.com

**【通讯作者】** \* 黄彦峰, 从事生理学实验技术及中草药药理学研究, Tel:13877696995, E-mail: huangyf238@126.com

我国是病毒性乙型肝炎的高发区, *D*-半乳糖胺所致的肝损伤与病毒性肝炎相似, 是目前最接近人临床病毒性肝炎病理变化的理想模型<sup>[1]</sup>。中医防治肝损伤、肝纤维化是多途径、多层次、多靶点的, 而且副作用小、经济适用, 极具开发价值<sup>[2]</sup>。

亚麻子具润燥通便、养血祛风等功效, 用于肠燥便秘、皮肤干燥、瘙痒、脱发等症<sup>[3]</sup>。国内外学者已从亚麻子中分离得到 3 个腈苷类成分, 4 个黄酮醇类化合物, 2 个木脂素类成分, 2 个苯丙烯酸酯类成分<sup>[4]</sup>, 此外还有环肽类、脂肪酸类和谷甾醇、烟碱、蔗糖、胡萝卜苷、色氨酸<sup>[5]</sup>等化学成分。现代药理研究表明, 亚麻子具有显著的调血脂、降血压、降血糖、抗炎、抗过敏、抗癌、提高记忆力和机体免疫力等作用, 并用于治疗心血管、癌症、风湿、化学性肝损伤、疟疾等疾病<sup>[6]</sup>。在我国民间, 早已有人用亚麻根或子治疗慢性肝炎的历史。本实验以小鼠为研究对象, 初步探讨亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤的保护作用。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 亚麻子 (linseed, 广西省百色市市售药材, 经右江民族医学院民族医学教研室覃道光教授鉴定为亚麻科植物亚麻 *Linum usitatissimum* 的干燥成熟种子); 联苯双酯滴丸 (广州白云山星群药业股份有限公司, 批号 KF40023); *D*-氨基半乳糖盐酸盐 (*D*-GalN, 亦称 *D*-半乳糖胺, 上海源叶生物科技有限公司, 批号 YS0918TA14); 丙氨酸转氨酶 (ALT), 天冬氨酸转氨酶 (AST), 丙二醛 (MDA), 谷胱甘肽 (GSH), 超氧化物歧化酶 (SOD) (均购于南京建成生物工程研究所, 批号 20140922, 20140905, 20140920, 20140917, 20140918)。

**1.2 仪器** TD24A-WS 型低速台式离心机, TGL-16G 型离心机 (上海安亭科学仪器), FSH-2A 型可调高速电动匀浆机 (金坛市金南仪器厂), XW-80A 型旋涡混合器 (上海医科大学仪器厂), 722 型可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司)。

**1.3 动物** 昆明种小鼠 90 只, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由本院实验动物中心提供, 合格证号 SCXK (桂) 2012-0003。

## 2 方法

### 2.1 亚麻子提取物的制备<sup>[7]</sup>

**2.1.1 水提取物的制备** 取亚麻子粉末 100 g, 加入 10 倍蒸馏水浸泡 1 h, 用冷凝回流的方法煮沸 1 h, 自然冷却至室温后过滤, 保存滤液; 同法再加入 8 倍量蒸馏水, 煮沸 1 h, 滤过, 合并滤液, 隔水蒸发浓

缩, 定容为  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 冷藏, 用时恢复至室温并配制相应浓度。

**2.1.2 醇提取物的制备** 取亚麻子粉末 100 g, 用 75% 乙醇浸泡 1 h, 提取方法同 2.1.1。

**2.2 动物分组及给药** 取 90 只小鼠按体重随机分为 9 组, 即空白组、模型组、联苯双酯滴丸组、亚麻子水提物和醇提物的低、中、高剂量组, 每组 10 只。空白组和模型组每天 *ig* 等量的生理盐水, 联苯双酯滴丸组按  $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  药量 *ig* 联苯双酯滴丸, 亚麻子水提物与醇提物低、中、高剂量组 *ig*  $0.3, 0.5, 0.7 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的提取物 (分别相当于生药  $3, 5, 7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 给药容积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 每天给药 1 次, 连续给药 10 d。

**2.3 复制 *D*-半乳糖胺急性肝损伤模型** 临用前将 *D*-半乳糖胺配制成 10% 生理盐水溶液, 用  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 调 pH 至 7.0。造模各组小鼠于第 9 天灌喂给药 12 h 后, 按  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  *ip* 10% *D*-半乳糖胺溶液<sup>[8]</sup>; 空白组 *ip* 等体积的生理盐水。动物禁食不禁水, 末次给药 24 h 后称重, 摘眼球采血, 取肝脏。

### 2.4 检测指标

**2.4.1 肝脏指数及组织病理学检查** 小鼠取血后立即断颈椎处死, 取肝脏并称其湿重, 计数肝指数 [肝湿重 (mg)/体重 (g)]。取肝右叶固定、脱水、石蜡包埋、HE 染色, 光镜观察肝脏病理组织学变化。

**2.4.2 生化指标测定** 小鼠取血后以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取血清备用, 按试剂盒说明测血清中 ALT 和 AST 活性。取肝左叶  $0.2 \sim 1.0 \text{ g}$  放入匀浆管中, 加入 9 倍预冷的生理盐水后匀浆制备 10% 的组织匀浆, 以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10~15 min, 取上清液, 按试剂盒说明测其肝组织中的 SOD 活性, MDA 含量和 GSH 水平。

**2.5 统计学处理** 结果用  $\bar{x} \pm s$  表示, 利用 SPSS 19.0 统计软件, 单因素方差分析, 组间比较采用 LSD 比较,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对急性肝损伤小鼠肝指数的影响** 与空白组比较, 模型组肝指数明显增高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 联苯双酯滴丸组的肝指数无明显改善; 亚麻子提取物各剂量组均可降低肝指数 ( $P < 0.01, P < 0.05$ )。见表 1。

**3.2 对急性肝损伤小鼠血清 ALT, AST 的影响** 与空白组比较, 模型组显著提高血清 ALT, AST 活性 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 亚麻子提取物各剂量组血清 ALT, AST 活性都明显降低 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 1 亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致急性肝损伤小鼠肝指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of Lini Semen extract on liver index *D*-GaIN induced acute liver injury in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	体重 /g	肝指数 /mg·g <sup>-1</sup>
空白	-	28.8 ± 2.8	39.2 ± 2.2 <sup>2)</sup>
模型	-	28.8 ± 3.2	56.6 ± 4.1
联苯双酯滴丸	0.15	28.9 ± 4.8	53.9 ± 5.5
亚麻子水提取物	3	28.9 ± 3.6	48.5 ± 5.1 <sup>2)</sup>
	5	28.9 ± 3.8	46.9 ± 3.3 <sup>2)</sup>
	7	29.0 ± 4.2	46.5 ± 2.3 <sup>2)</sup>
亚麻子醇提取物	3	29.0 ± 2.4	46.0 ± 2.4 <sup>2)</sup>
	5	28.9 ± 2.9	46.4 ± 4.4 <sup>2)</sup>
	7	32.6 ± 4.8	52.3 ± 4.5 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~3 同)。

3.3 对急性肝损伤小鼠肝组织 SOD, MDA, GSH 的影响 与空白组比较,模型组显著降低肝组织的 SOD 和 GSH 水平升高 MDA 含量 ( $P < 0.01, P <$

表 2 亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致急性肝损伤小鼠血清 ALT, AST 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect Lini Semen extract on serum ALT, AST of *D*-GaIN induced acute liver injury in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ALT /U·L <sup>-1</sup>	AST /U·L <sup>-1</sup>
空白	-	9.7 ± 6.3 <sup>2)</sup>	34.0 ± 11.5 <sup>2)</sup>
模型	-	144.4 ± 20.0	143.8 ± 15.0
联苯双酯滴丸	0.15	48.3 ± 11.5 <sup>2)</sup>	56.8 ± 11.6 <sup>2)</sup>
亚麻子水提取物	3	66.2 ± 4.5 <sup>2)</sup>	66.4 ± 20.3 <sup>2)</sup>
	5	76.1 ± 7.1 <sup>2)</sup>	66.9 ± 24.4 <sup>2)</sup>
	7	68.5 ± 4.6 <sup>2)</sup>	74.6 ± 15.7 <sup>2)</sup>
亚麻子醇提取物	3	94.7 ± 13.1 <sup>2)</sup>	57.5 ± 17.2 <sup>2)</sup>
	5	96.5 ± 11.0 <sup>2)</sup>	95.2 ± 11.4 <sup>2)</sup>
	7	32.9 ± 7.6 <sup>2)</sup>	42.3 ± 7.4 <sup>2)</sup>

0.05);与模型组比较,亚麻子水提取物高剂量组和亚麻子醇提取物低剂量组的 SOD 活性升高 ( $P < 0.05$ ),MDA 含量降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致急性肝损伤小鼠肝组织 SOD,MDA,GSH 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect Lini Semen extract on liver tissue SOD, MDA, GSH of *D*-GaIN induced acute liver injury in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	SOD/U·mL <sup>-1</sup>	MDA/μmol·L <sup>-1</sup>	GSH/mg·g <sup>-1</sup>
空白	-	370.2 ± 32.3 <sup>2)</sup>	17.1 ± 6.6 <sup>1)</sup>	27.5 ± 4.7 <sup>2)</sup>
模型	-	201.9 ± 49.8	25.6 ± 5.8	12.1 ± 4.3
联苯双酯滴丸	0.15	278.1 ± 22.4 <sup>2)</sup>	17.3 ± 6.7 <sup>1)</sup>	19.3 ± 6.6 <sup>2)</sup>
亚麻子水提取物	3	230.2 ± 64.4	20.1 ± 7.7	13.8 ± 4.4
	5	255.3 ± 46.9 <sup>1)</sup>	18.7 ± 7.0	15.2 ± 6.8
	7	296.6 ± 37.7 <sup>2)</sup>	17.4 ± 6.6 <sup>1)</sup>	15.3 ± 4.2
亚麻子醇提取物	3	268.4 ± 23.9 <sup>1)</sup>	17.2 ± 8.9 <sup>1)</sup>	14.4 ± 4.7
	5	218.6 ± 97.7	18.8 ± 6.4	14.3 ± 4.1
	7	221.3 ± 58.3	22.0 ± 7.34	12.1 ± 4.5

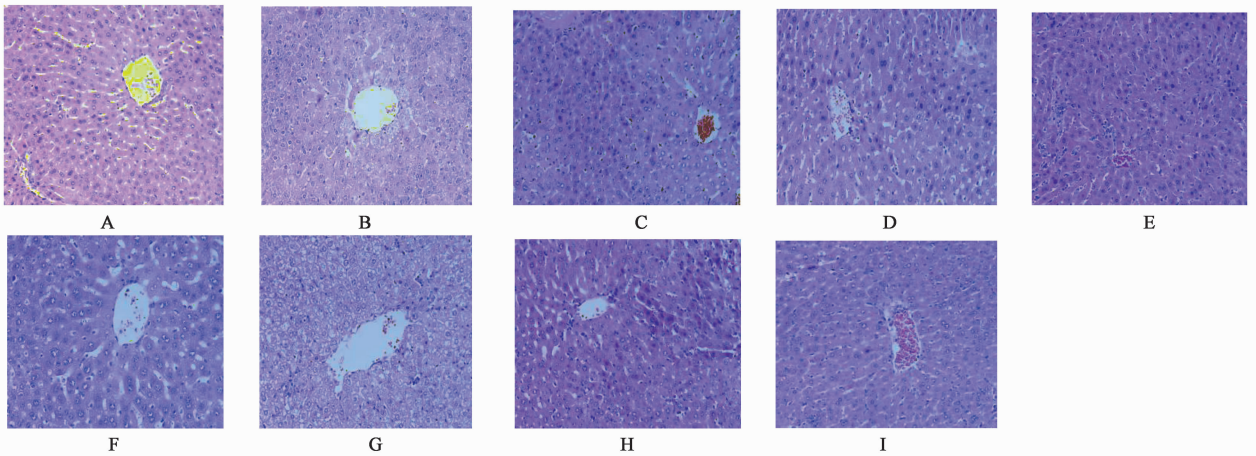
3.4 对肝脏组织学病理变化的影响 空白组肝组织结构清晰,无肝细胞变性、坏死;模型组肝组织结构不清,肝细胞弥漫水肿,胞浆肿胀透亮、疏松,肝细胞明显溶解、坏死及消失;与模型组比较,亚麻子治疗组肝脏组织结构、肝细胞溶解坏死数量等均有较大的改善,有肝细胞再生,特别是亚麻子高剂量组改善最为显著。见图 1。

#### 4 讨论

肝损伤的防治仍是一个严峻课题,目前肝损伤动物模型的复制主要有生物性、免疫性、化学性等方法。化学物质、药物、乙醇等能直接或间接诱导肝细

胞生物膜系统发生脂质过氧化,干扰细胞内的能量代谢,活化细胞死亡程序等,最终以转氨酶升高的形式表现为不同程度的肝功能异常。

血清的 ALT 和 AST 是反映肝细胞受损的重要指标<sup>[9]</sup>,因为 ALT 存在于肝细胞浆内,当组织坏死、细胞破裂等原因使细胞膜的通透性增大时,大量 ALT 逸入血清。AST 存在于肝细胞线粒体中,细胞坏死时释出。因此,测定血清 ALT,ASL 活性可反映肝细胞损伤的程度。亚麻子提取物各剂量组均可显著降低 *D*-半乳糖胺致急性肝损伤小鼠血清中的 ALT,ASL 活性,肝组织结构有改善,肝细胞坏死数



A. 空白组; B. 模型组; C. 联苯双酯滴丸  $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; D. 亚麻子醇提  $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 亚麻子醇提  $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; F. 亚麻子醇提  $7.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; G. 亚麻子水提  $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; H. 亚麻子水提  $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; I. 亚麻子水提  $7.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

图 1 亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺所致小鼠急性肝损伤肝脏病理改变的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig. 1 Effect Lini Semen extract on hepatic pathological change of *D*-GalN induced acute liver injury in mice (HE,  $\times 200$ )

量减少,有肝细胞再生,特别是高剂量组改善较为显著,说明亚麻子能减轻肝细胞水肿,抑制肝细胞变性坏死,促进肝细胞再生,对 *D*-半乳糖胺所致小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用。

SOD 是超氧阴离子自由基的清除剂,可抑制自由基启动的脂质过氧化反应,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,其含量的变化可作为衡量肝损伤程度的指标之一<sup>[10]</sup>。MDA 具有很强的生物毒性,可严重破坏细胞膜结构,导致细胞肿胀、坏死,其含量直接反映了组织氧化损伤的程度,间接反映了肝细胞受自由基攻击后损伤的程度,可作为评价氧自由基脂质过氧化损伤的较敏感的指标<sup>[11]</sup>。通过亚麻子治疗后,亚麻子水提取物高剂量组和醇提物低剂量组可增加 *D*-半乳糖胺致急性肝损伤小鼠中肝组织 SOD 活性,降低 MDA 含量,提示亚麻子提取物对肝脏功能的保护作用可能通过降低肝细胞中氧化脂质的含量,提高机体抗氧化酶的活性,促进自由基的清除,减轻自由基对肝细胞的损伤。

本次实验发现,亚麻子提取物对 *D*-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用,推测其机制可能与保护肝细胞膜、清除自由基、抗脂质过氧化等作用有关,由于中草药成分复杂,其作用机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科技出版社,2006:460.

[2] 史秀玲,高银辉. 绿原酸对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):199-202.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:119-120.

[4] 王莉莉,巴俊杰. 中药亚麻子化学成分及其药理活性研究进展[J]. 内蒙古中医药,2008(6):54-56.

[5] Luyengi L, Pezzuto J M, Waller D P, et al. Linustamarin, a new phenylpropanoid glucoside from *Linum usitatissimum* [J]. J Nat Prod, 1993, 56(11): 2012-2015.

[6] 司秉坤,赵余庆. 亚麻子化学成分的研究[J]. 中草药,2008,39(12):1793-1794.

[7] 文全泰,潘廷敢,黄礼德,等. 土人参提取液对 *D*-半乳糖所致衰老小鼠的抗氧化作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2014(5):662-665.

[8] 李梅,谷淑玲,马腾飞. *D*-氨基半乳糖致小鼠、大鼠肝损伤模型的实验性研究[J]. 徐州医学院学报,2007, 27(2):86-88.

[9] 周园,黎小妍,熊天琴,等. 高良姜对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 北方药学,2012,9(7):30-31.

[10] 周步高,喻松仁,高书亮,等. 加味茵陈蒿汤对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用的实验研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(7):1720-1722.

[11] 祁平,樊惠,梁颖娥,等. 4-羟基苯并恶唑-2-酮对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药,2012,23(7):1668-1669.

[责任编辑 聂淑琴]